

## OBSERVATIONS EN MICROSCOPIE À FLUORESCENCE DES NOYAUX DU *CLADOPHORA PYGMAEA* (CLADOPHORACÉES, SIPHONOCLEDALES)

Sigurdur JÓNSSON\* et Liliane CHESNOY\*\*

\* Laboratoire de Biologie Végétale Marine,  
Université P. et M. Curie, 7 Quai Saint-Bernard,  
75230 Paris Cedex 05, France.

\*\* Laboratoire des Membranes Biologiques,  
Université Paris VII, 2 Place Jussieu,  
75251 Paris Cedex 05, France.

**RÉSUMÉ** - Le microscope à fluorescence révèle, après coloration à l'acridine orange, 9 à 32 petits noyaux par cellule végétative chez *Cladophora pygmaea* Reinke, récoltée dans les eaux danoises. La croissance est surtout intercalaire. Les divisions nucléaires sont synchrones à l'intérieur de chaque cellule et ne présentent pas un rapport direct avec la cytotélose comme c'est la règle dans le genre *Cladophora*.

**ABSTRACT** - Entire thalli of *Cladophora pygmaea* from Danish waters (Kattegat) were fixed in 70% ethanol, washed in distilled water and stained in acridin orange solution at the concentration of 0,05 mg AO ml<sup>-1</sup> in a phosphate buffer, 0,15 M at pH 6,7. They were observed in a Zeiss epifluorescence microscope equipped with suitable excitation / barrier filters: Fl 500, excitation filter BG<sub>3</sub>, barrier filters "47" and "65". Cells turn out to be multinucleate, each containing 9 to 32 small nuclei. Growth appears to be mainly intercalary. Nuclear divisions are simultaneous for each cell and are not immediately followed by cytokinesis as usually in the genus *Cladophora*.

**MOTS CLÉS** : Epifluorescence, nuclei, *Cladophora pygmaea*, Chlorophyta.

### INTRODUCTION

*Cladophora pygmaea* se distingue de toutes les autres espèces de *Cladophora* connus par sa taille réduite. Elle ne dépasse guère 1 à 2 mm de hauteur. C'est une espèce marine qui pénètre dans les milieux saumâtres (S: 15‰ environ). Elle vit avec diverses Phéophycées et Rhodophycées, parfois encroûtantes, dans les fissures des rochers ou sur les petits galets, à des profondeurs variant de 2 à 35 m.

Cette espèce a été décrite d'après les échantillons récoltés dans la Baie de Kiel, dans la Mer Baltique (Reinke, 1988, 1989 a et b).

La répartition de *Cladophora pygmaea* semble assez large. Elle se cantonne dans les eaux froides tempérées. Elle a été trouvée sur les côtes

ouest de la Suède (Waern, 1940; Söderström, 1963), à l'intérieur du fjord d'Oslo (Sundene, 1953). Sur les côtes du Danemark, en Kattegat, elle a été identifiée il y a dix ans (Tyge Christensen, *in litteris*); une publication vient d'être consacrée à sa présence à la suite de nouvelles récoltes (Lundsteen, 1991 - Ministère de l'Environnement, Copenhague - *vide* Tyge Christensen). De plus, elle a été signalée sur les côtes de la Grande-Bretagne (Irvine *et al.*, 1977), de l'Irlande et de la France (Maggs & Guiry, 1981<sup>\*</sup>). En Amérique du Nord on l'a récoltée en plusieurs endroits, sur les côtes atlantiques (Wilce, 1970; Hooper & South, 1977) et pacifiques (Norris & Hollenberg, 1969).

Si les études morphologiques de *C. pygmaea* sont bien documentées (Reinke, 1889 a et b; Waern, 1940; van den Hoek, 1963, 1982; Wilce, 1970), sa reproduction et sa structure cellulaire restent, par contre, insuffisamment connues. Dans la description générale du taxon américain l'état plurinucléé des cellules - chaque cellule contenant jusqu'à 20 noyaux ou plus - est indiqué, sans autres précisions (Wilce, 1970). La croissance intercalaire du thalle est aussi mentionnée, de même que la présence de zoïdes quadriflagellés. La présente note apporte quelques précisions quant à l'état plurinucléé des cellules et à la croissance intercalaire.

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le matériel a été récolté en juin 1991 sur la côte du Danemark, dans le Kattegat, sur un fond rocheux, appelé Store Middelgrund, à 12 m de profondeur, par S. Lundsteen. Isolé et identifié comme *Cladophora pygmaea* Reinke par R. Nielsen (Botanisk Museum, Université de Copenhague), il a été fixé à l'alcool 70° additionné d'un peu de glycérine, puis expédié à Paris.

La technique de coloration des noyaux par l'acridine orange (AO) est inspirée par la méthode de Couturier *et al.* (1973) pour la coloration des chromosomes humains. Après rinçage du matériel à l'eau distillée, les échantillons ont été montés directement entre lame et lamelle dans la solution de l'AO à la concentration finale de 0,05 mg AO.ml<sup>-1</sup>, obtenues par mélange des solutions suivantes:

- A. Solution-mère à la concentration de 1 mg AO.ml<sup>-1</sup> dans de l'eau bi-distillée ..... 5 ml  
 B. Tampon phosphate de Sørensen, 0,15M, pH 6,7 ..... 95 ml

L'observation a été faite en lumière ultraviolette proche du visible, au microscope à fluorescence de type "Zeiss Model II F1 vertical illuminator", équipé d'une lampe à vapeur de mercure HBO 200 W/4 (Ozram) et avec la combinaison suivante: F1 500, filtre d'excitation II = BG3 et filtres d'arrêt de "47" et "65". Les noyaux fluorescent en vert brillant, le cytoplasme en rouge. Les microphotographies en noir et blanc ont été obtenues avec un

<sup>\*</sup> La présence de *C. pygmaea* à Roscoff, signalée par ces auteurs, n'a pu être confirmée jusqu'ici.

film Kodak Tri-X pan 400, avec les objectifs F1 Neofluor 10/0,30 et F1 Neofluor 16/0,40\*\*.

## RÉSULTATS

La figure 1A montre, dans son intégralité, un sujet de *Cladophora pygmaea*, haut de 0,62 mm environ. Il est composé de 40 cellules, y compris la cellule basale, caractérisée par son épatement dû à l'épaississement de la paroi cellulaire. La cellule suprabasale porte un verticille de 4 rameaux, insérés obliquement ou horizontalement. Deux rameaux portent à leur base des ramules de second ordre, mais on n'observe pas un indice de ramification acropète. Les rameaux sont parfois rétrécis vers le haut, se terminant le plus souvent par une cellule légèrement conique. Le diamètre cellulaire varie de 17,3  $\mu\text{m}$  à 57,3  $\mu\text{m}$ . Les cellules, isodiamétriques ou deux fois plus longues que larges, sont pourvues d'une paroi cellulaire lamelleuse particulièrement épaisse au niveau des cellules inférieures du thalle.

Chaque cellule, sauf la cellule podale qui paraît optiquement vide, contient plusieurs petits noyaux (diamètre: 4  $\mu\text{m}$ ). Ils fluorescent brillamment dans le vert sous l'action de l'AO. Dans les petites cellules on compte 7 à 9 noyaux, alors que les plus grandes en contiennent jusqu'à 32. Ils sont uniformément répartis dans la cellule. Quelques cellules intercalaires plus allongées renferment des noyaux en anaphase ou télophase synchrones (fig. 1 B, flèches). Ces cellules ne montrent aucun indice de cloisonnement transversal ce qui souligne l'indépendance relative entre divisions nucléaires et cloisonnement cellulaire. Des divisions nucléaires s'observent aussi dans les cellules apicales.

## DISCUSSION

Une des caractéristiques fondamentales définissant le genre *Cladophora* est l'état plurinucléé des cellules et l'indépendance relative de la division des noyaux et de la septation transversale (Jónsson, 1962). En raison de la taille réduite de *Cladophora pygmaea* on aurait pu croire que les cellules ne renfermaient qu'un nombre limité de noyaux, voire un seul comme chez le *Spongomorpha aeruginosa* (L.) van den Hoek, par exemple. Or, de ce point de vue, *Cladophora pygmaea* ne diffère en rien des autres espèces du genre *Cladophora*, comme par exemple le *Cladophora rupestris* (L.) Kütz. qui contient environ 20 noyaux somatiques par cellule (Jónsson & Chesnoy, 1971). Le taxon américain du *Cl. pygmaea* semble, pour ce caractère, identique à celui du Danemark. De plus, les divisions synchrones des noyaux à l'intérieur de chaque cellule et l'absence de cytokinèse au moment des divisions nucléaires chez *Cladophora pygmaea* sont de nature à renforcer les liens de cette espèce avec le genre *Cladophora*.

\*\* Cette méthode, très rapide, permet également de mettre en évidence les noyaux dans du matériel vivant ou conservé à l'eau de mer formolée à 5%, voire dans des échantillons d'herbier, même anciens.

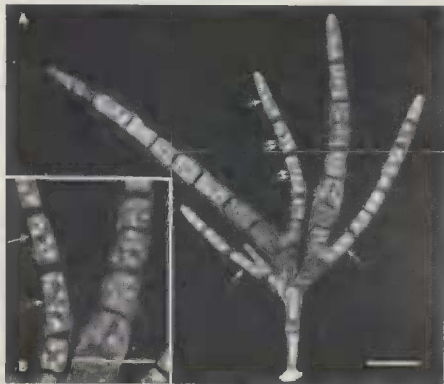


Fig. 1. - *Cladophora pygmaea*: observation en microscopie à fluorescence après coloration à l'aeridine orange. A - thalle entier montrant l'état plurinucléé des cellules (sauf la cellule basale et une cellule lésée); de nombreuses cellules montrent des noyaux en mitose (flèches). B - détails de la région indiquée par des doubles flèches sur le cliché A; noter l'absence de cytokinèse et le synchronisme des divisions nucléaires à l'intérieur de chaque cellule. Echelle: 0,1 mm.

Les divisions nucléaires sont surtout observées dans les cellules intercalaires. La croissance de l'espèce semble donc être préférentiellement intercalaire comme plusieurs auteurs l'ont déjà suggéré, en se basant simplement sur les dimensions des cellules (par ex.: Waern, 1940; Wilce, 1970; van den Hoek, 1963, 1982).

Initialement, en raison de la taille des individus, le sous-genre *Chamaethamnion* a été créé pour recevoir le *Cladophora pygmaea* (Reinke, 1889 a). Cet auteur fut suivi par van den Hoek (1963, 1982) qui considère toutefois le sous-genre de Reinke comme une section du *Cladophora*. On peut s'interroger sur l'opportunité de maintenir un sous-genre ou une section pour une espèce dont le seul caractère distinctif serait la petite taille.

## REMERCIEMENTS

Nous savons gré au Dr Ruth Nielsen et Steffen Lundsteen, Botanisk Museum, Université de Copenhague, de nous avoir fourni le matériel. Nous remercions également Pr. Tyge Christensen, Institut for Sporoplantar, Université de Copenhague, pour avoir encouragé la publication de ces résultats.

## BIBLIOGRAPHIE

- COUTURIER J., DUTRILLAUX B. & LEJEUNE J., 1973 - Etude de fluorescence spécifiques des bandes R et des bandes Q des chromosomes humains. *Compt. Rend. Hebd. Acad. Sci.*, sér. D 276: 339-342.
- HOEK C. van den, 1963 - *Revision of the European species of Cladophora*. Leiden E.J. Brill, XI + 248p. + 55pl.
- HOEK C. van den, 1982 - A taxonomic revision of species of *Cladophora* (Chlorophyceae) in the North Atlantic Ocean and their geographic distribution. *Verh. Kon. Ned. Akad. Wetensch., Afd. Natuurk.*, Reeks 2, 78: 1-236.
- HOOPER R. & SOUTH G.R., 1977 - Additions to the benthic marine flora of Newfoundland III, with observations on species new to Eastern Canada and North America. *Naturaliste Canad.* 104: 383-394.
- IRVINE D.E.G., GUIRY M.D., TITLEY I. & RUSSEL G., 1975 - New and interesting marine algae from the Shetland Isles. *Brit. Phycol. J.* 10: 57-71.
- JÖNSSON S., 1962 - Recherches sur les Cladophoraceae marines (structure, cycles comparés, conséquences systématiques). *Ann. Sci. Nat. Bot.*, 12e sér., III: 25-230 + 16 pl.
- JÖNSSON S. & CHESNOY L., 1971 - Méiose et sporogénèse chez le *Cladophora rupestris* (L.) Kütz. *C.R. Compt. Rend. Hebd. Acad. Sci.*, sér. D 272: 1754-1756.
- LUNDSTEFN S., 1991 - *Rapport du Ministère de l'Environnement*, Copenhague.
- MAGGS C.A. & GUIRY M.D., 1981 - Le *Cladophora pygmaea* Reinke, espèce nouvelle pour les côtes de France. *Trav. Stat. Biol. Roscoff*, n. s. 27: 11-13.
- NORRIS R.E. & HOLLENBERG G.J., 1969 - Notes on marine algae of Washington and Southern British Columbia IV. *Syesis* 2: 115-119.
- REINKE J., 1888 - Einige neue braune und grüne Algen der Kieler Bucht. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.*, VI, 7: 1-2.
- REINKE J., 1889a - Algenflora der Westlichen Ostsee. Deutschen Anteils. *Ber. Komm. wiss. Untersuch. d. deutscher Meere*. Kiel. XI + 85 p.
- REINKE J., 1889 b - Atlas deutscher Meeresalgen. *Ber. Komm. wiss. Untersuch. d. deutscher Meere*. Heft I, Tafel I bis 25.
- SÖDERSTRÖM J., 1963 - Studies in *Cladophora*. *Bot. Gothob.* 1: 5-147.
- SUNDENE O., 1953 - The algal vegetation of Oslofjord. *Skr. Norsk. Vidensk.-Akad. Oslo, Mat.-Naturvidensk. Kl.* N° 2: 1-244 + carte.
- WAERN M., 1940 - *Cladophora pygmaea* und *Leptonema lucifugum* an der schwedischen Westküste. *Acta Phytogeogr. Suecica* 13: 1-6.
- WILCE R.L., 1970 - *Cladophora pygmaea* Reinke in North America. *J. Phycol.* 6: 260-263.